



キラルカラム Kit 使用法

シクロデキストリンを固定相としたGCキャピラリーカラムは、DEXキラルカラムと呼ばれており、光学異性体分離に特に有用です。これらのカラムは、反応混合物や化合物中のエナンチオマーの測定やサンプル中の不純物測定に使用されています。多くのラセミ体化合物を一種類のシクロデキストリン固定相で分離することは大変困難です。スペルコでは、多種のシクロデキストリン包接サイズおよびシクロデキストリンの水酸基を誘導体化した極性の異なるDEXカラムシリーズを提供しています。

どの固定相がどの化合物の分離に適しているかを予測することは大変難しく、カラム選択は、実験に基づいて行われます。カラム選択を容易にするためにスペルコではキラルカラムKitを用意しております。キラルカラムKitの4種類のカラムは、エナンチオマー分離に最も適しています。Kitには、-DEX 120、-DEX 225、-DEX 325、-DEX 225の4種類、カラムサイズが30m × 0.25mmID, 0.25 μm filmのものがそれぞれ1本ずつセットになっています。これらのカラムを使用することにより、優れたエナンチオマー異性体の分離が期待できます。

キラル化合物の分離における、最適なカラム選択とGC分析条件の設定について説明します。

カラム選択の手順

キラルカラムKitから最適なカラムを選択するには、次の3つの手順が必要です。(Fig.1参照)

1. サンプルを用意しGCの初期設定を行います。
2. GCを昇温条件に設定し、目的の化合物がGC分析可能かどうか判断します。
3. 恒温分析に最適なカラム温度を設定します。

この手順は、1本のカラムに対し約4時間を要します。複数のGCまたはインジェクターおよび検出器を2個備えている装置にカラムを設置すると4本のカラム評価に要するのに時間短縮が効果的に行えます。スペルコ内で行った、カラム選択の手順についてのさらに詳しい内容を2例、次に説明します。

サンプル前処理とGCの初期設定

カラム選択の最初のステップは、最適な溶媒にサンプルを溶解し、Table 1.に示すようにGCの分析条件を確定することです。一般にジクロロメタンやメタノールは、サンプルを希釈するのに適している溶媒です。GCのキャリアーガスの線速度を最適な条件に設定します。

スプリットインジェクションがお勧めですが、熱に不安定な化合物等の場合は、オンカラムインジェクションを使用しても構いません。FIDは、ほとんどの化合物に適していますが、場合により、MS(質量分析計)やECDなども使用できます。

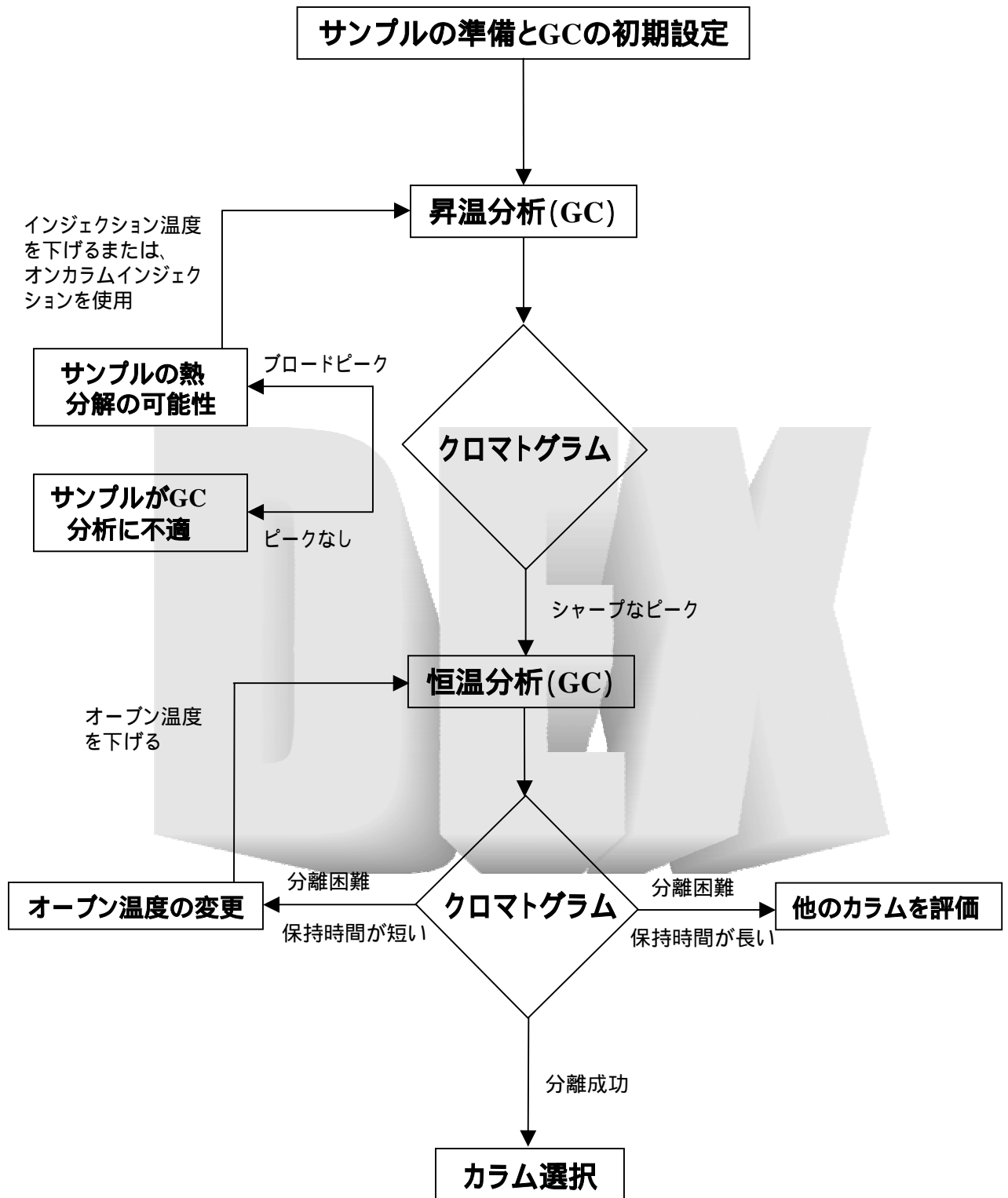
Table 1. キラルカラム評価GC初期条件

サンプル濃度 : 10mg/mL in ジクロロメタン または メタノール
インジェクション : 1μL, スプリット (100:1)
インジェクター : 230
検出器 : FID, 250
キャリアーガス : ヘリウム, 25cm/sec 線速度, 180 または
水素, 50cm/sec 線速度, 180

昇温分析時のGCオープン温度設定

オープン : 50 to 230, 10 /min

Fig.1 カラム選択の手順



昇温分析

サンプルの準備およびGCの初期設定が完了後、目的の化合物がGC分析において安定かどうかを昇温分析を行うことにより判断します。GCの初期温度を50、10 /minでキラルカラムの最高使用温度である230まで昇温します。230以下の温度で分解する化合物の場合は、インジェクションおよび昇温の最終温度を下げてください。クロマトグラム上で目的の化合物がシャープなピークであればGC分析に適していますので、次のステップに進んでください。昇温分析の最終温度に到達し、60分経過しても、目的の化合物のピークがでない、またはピークがブロードの場合に目的の化合物は、GC分析に適さないと判断できます。熱による分解が考えられる場合は、インジェクション温度を下げる、もしくはオンカラムインジェクションを使用してください。

恒温分析

ほとんどのキラル化合物分離は、恒温分析が適してします。GCのオープン温度を設定する際、昇温分析の結果を参考にして下さい。一般的に昇温分析を行った際のラセミ体化合物が溶出した温度より20低めにオープン温度を設定して下さい。インジェクションや検出器の温度は、昇温分析と同じ温度に設定して下さい。この条件でエナンチオマーの分離を達成できれば、カラム選択は終了です。目的の化合物の溶出が早く、分離に満足いかなければ、より低いオープン温度で再度分析して下さい。キラルカラムは、オープン温度を下げることにより、エナンチオマーの分離を向上することができます。溶出が遅く、満足できない分離の場合は、別のキラルカラムを評価することをお勧めします。

分析例

3,4-Dihydroxyphenyl Glycol (3,4-ジヒドロキシフェニルグリコール)

この化合物は、約2時間でDEXカラムを使用してのGC分析には、適さないと判明しました。Figure 2.でわかるように昇温分析で認められるピークは溶媒のみです。

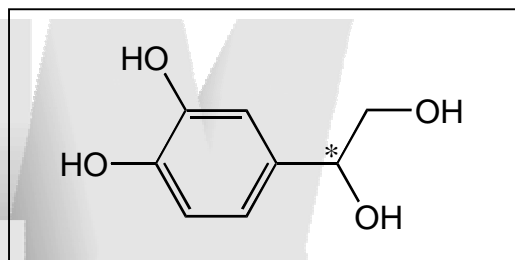
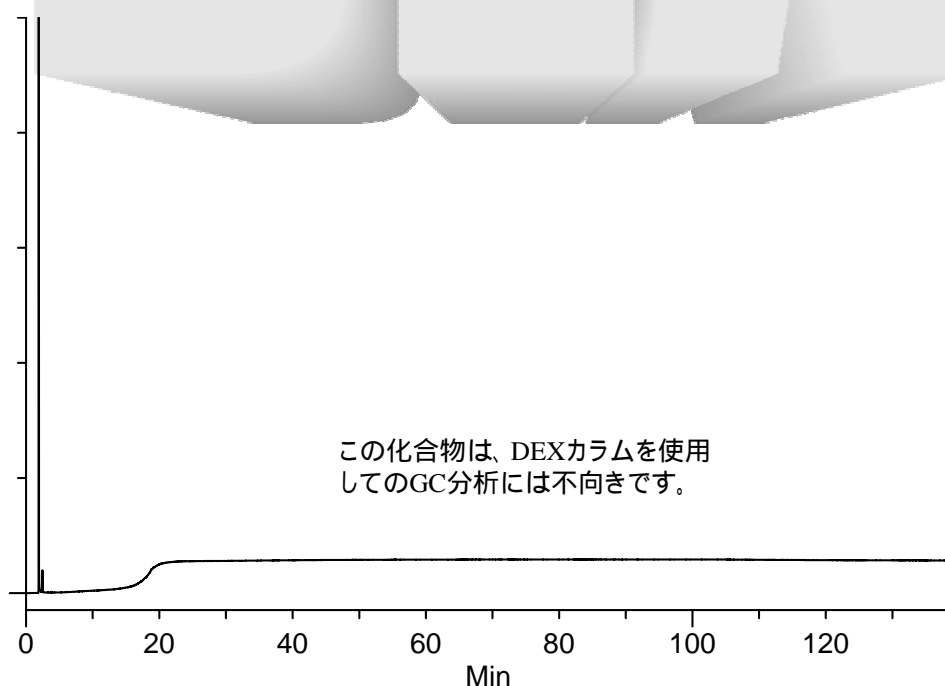


Figure 2. -DEX 120を使用しての3,4-Dihydroxyphenyl Glycolの昇温分析
(キャリアーガス:ヘリウム)



G000771

分析例

Benzoin Methyl Ether (ベンゾインメチルエーテル)

ベンゾインメチルエーテルは、DEXカラムを使用することで容易にエナンチオマー分析が可能です。2台のGCにカラムをそれぞれ2本ずつ設置し、4本のカラムキットを4時間で評価しました。その結果、-DEX 225が最も適していることがわかりました。

昇温分析において、-DEX 120を使用し、この化合物を分析すると良いピーク形状のクロマトグラムを得ることができました。(Figure 3.参照)しかし、温度を低く設定した恒温分析において、この化合物の分離は得られず、60分という保持時間の長さから、さらに低温での分離は望めないと判断しました。(Figure 4.参照)次に -DEX 225を評価しました。

エナンチオマーの分離はできませんでしたが、良いピーク形状のクロマトグラムを得ることができました。しかも、GCのオープン温度が180 で保持時間が17分と短いことから、より低い温度での分析が可能であることがわかります。(Figure 5.参照) Figure 6.でわかるように -DEX 225を使用し、オープン温度、150 でエナンチオマーの分離を達成できました。

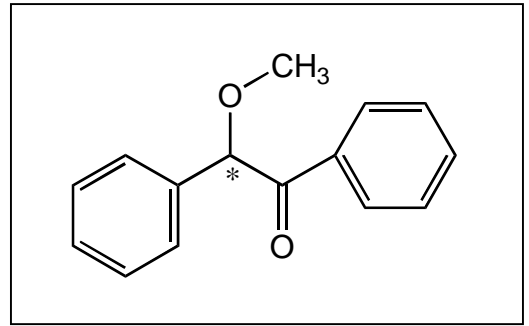
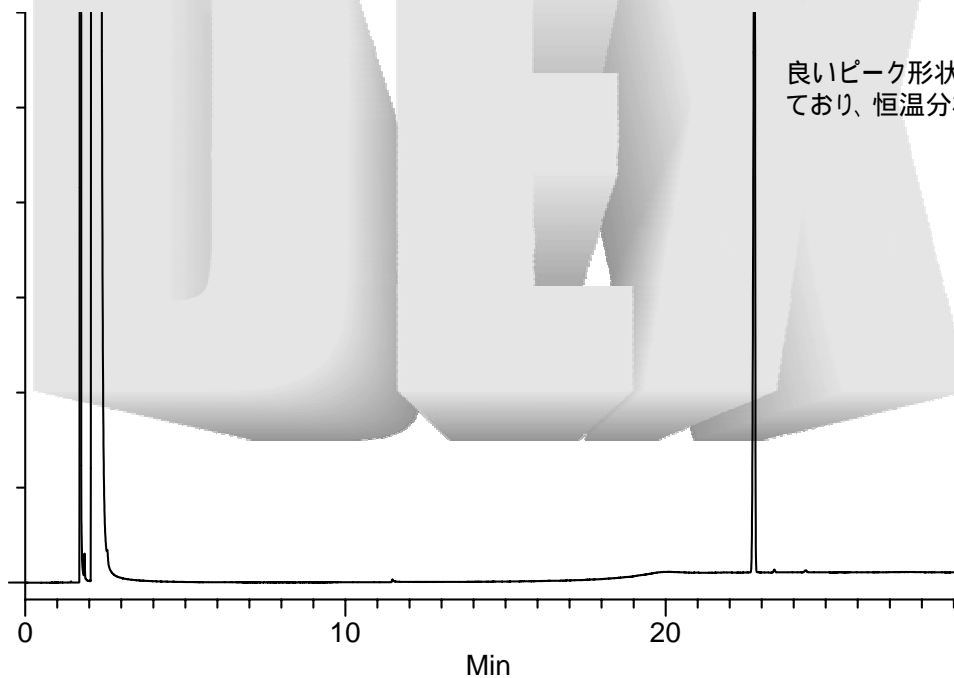
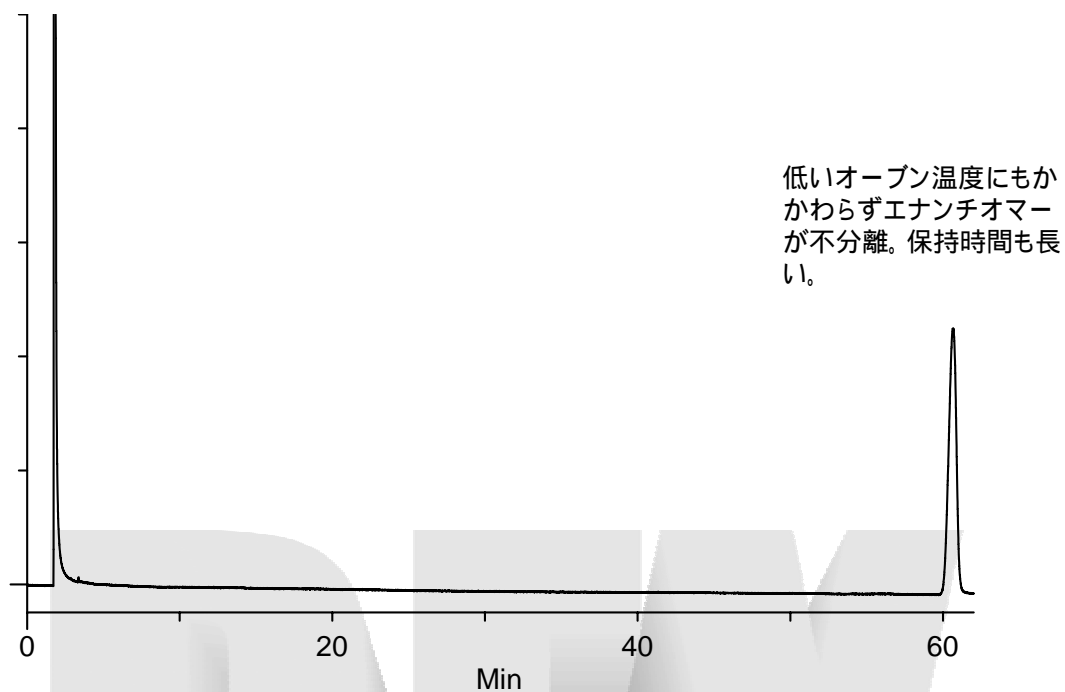


Figure 3. -DEX 120を使用してのBenzoin Methyl Ether の昇温分析
(キャリアーガス:ヘリウム)



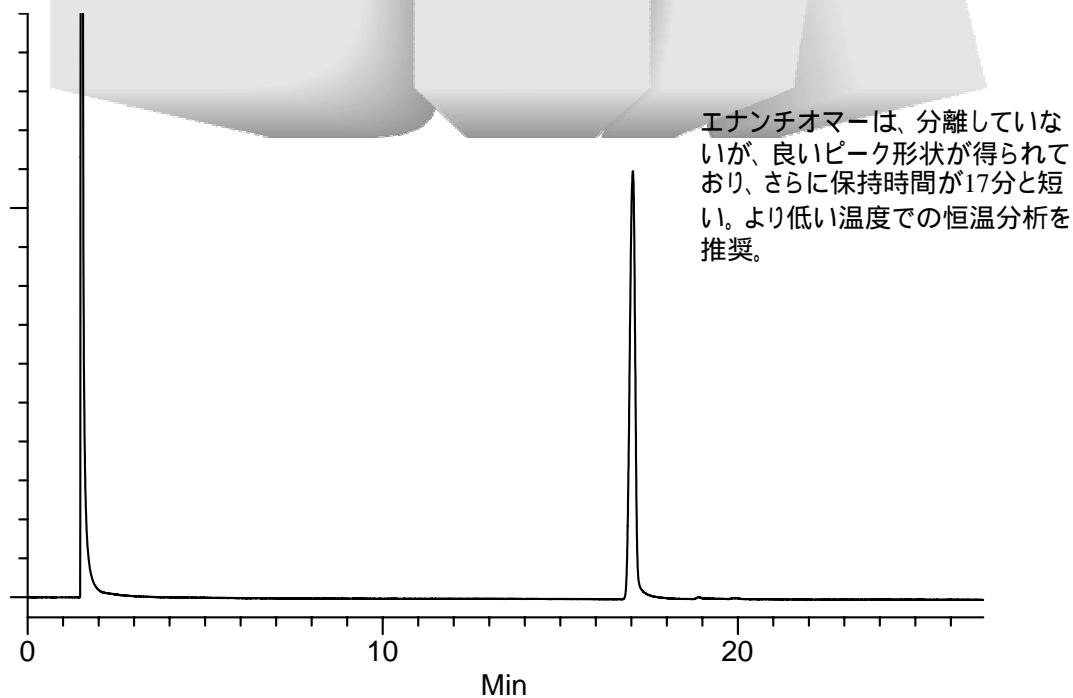
G000772

Figure 4. -DEX 120を使用してのBenzoin Methyl Ether の恒温分析
オープン温度 160 (キャリアーガス:ヘリウム)



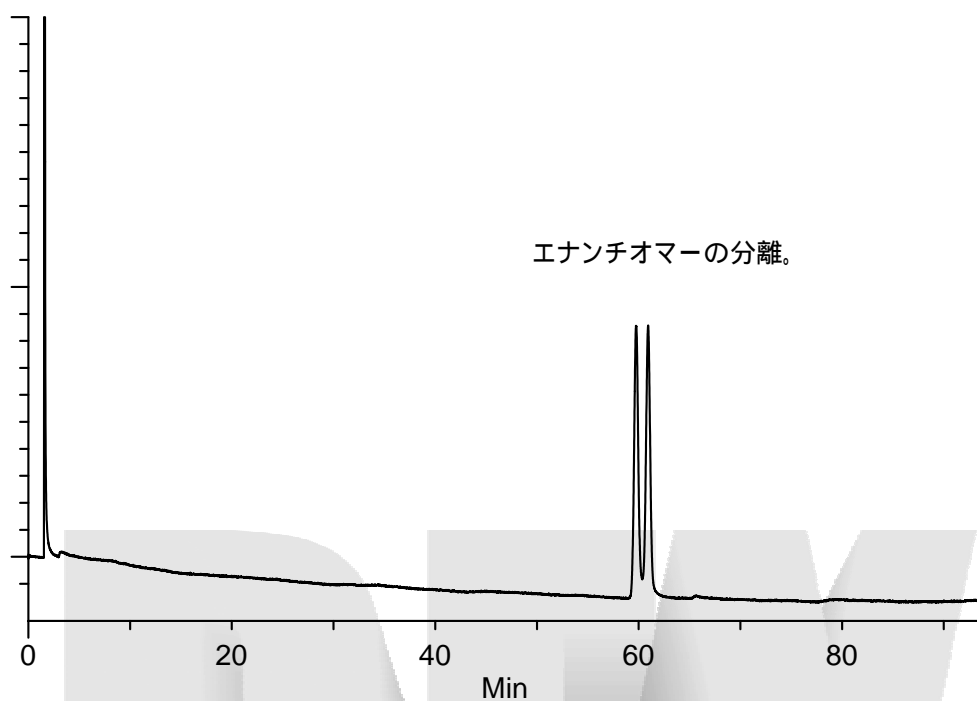
G000773

Figure 5. -DEX 225を使用してのBenzoin Methyl Ether の恒温分析
オープン温度 180 (キャリアーガス:ヘリウム)



G000774

Figure 6. -DEX 225を使用してのBenzoin Methyl Ether の恒温分析
オープン温度 150 (キャリアーガス:ヘリウム)



G000775

品名

キラルカラム Kit

Cat.No.

24328-U

*Kit II : 30m x 0.25mm ID, 0.25 μ m film column

-DEX 120, -DEX 225, -DEX 325, -DEX 225:各1本



SIGMA-ALDRICH

シグマ アルドリッチ ジャパン株式会社
スベルコ事業部

〒140-0002 東京都品川区東品川2-2-24 天王洲セントラルタワー-4F

製品に関するお問合せは、弊社テクニカルサポートへ

TEL 03-5796-7350 FAX 03-5796-7355

E-mail アドレス : sialjpsp@sial.com

在庫照会/ご注文方法に関するお問合せは、弊社カスタマーサービスへ

TEL 03-5796-7320 FAX 03-5796-7325

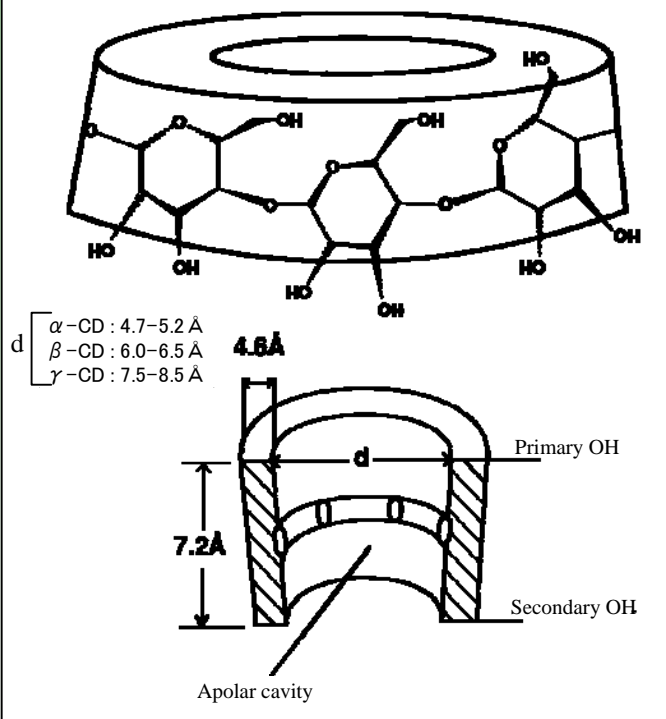
大阪営業所: 〒532-0004 大阪市淀川区西宮原2-7-38 新大阪西浦ビル

TEL 06-6397-5963 FAX 06-6397-4649

URL: <http://www.sigma-aldrich.com/japan>

お問合せは下記代理店へ

シクロデキストリン分子モデル



シクロデキストリンの構造と光学異性体分離

左図はシクロデキストリン(CD)分子の模式図です。CDは分子内部に空間を持つ環状のオリゴグルコースで、6量体の α -CD、7量体の β -CD、8量体の γ -CDが知られています。

CDはその分子空間に他の分子を取り込む(包接)作用があります。この包接作用は被包接物質の形と極性によって強さが異なり、立体的な形状に違いのある光学異性体の分離が行えると言われてしています。包接サイズは、 α -CD、 β -CD、 γ -CDの順に大きくなり、光学異性体の不斉部位が適合する空間に部分的に包接される形態が異なると分離が行えます。従って、CDタイプは光学異性体分離にとって重要な要素となります。しかしながら、実際の分離は包接作用のみで解析できない場合も多く、水素結合、双極子相互作用、立体的な排除、静電的作用等いくつかの要素が複合して光学選択を同時に担っていると考えられます。

スペルコのDEXカラムシリーズは、3タイプのCD開口部の水酸基を3種の官能基で置換しています。この誘導體化によってCD分子の構造、物理化学的性質が変わり、多様な光学異性体、位置異性体分離が可能となります。

DEXカラムシリーズ各種

カラム名	キラル相 (CD)	分離対象
α -DEX 120	nonbonded: 20% permethylated α -cyclodextrin in poly(35% diphenyl/65% dimethylsiloxane)	<ul style="list-style-type: none"> ●低分子のエナンチオマー ●芳香族位置異性体(フェノール類、キシレン等)の分離
β -DEX 110	nonbonded: 10% permethylated β -cyclodextrin in poly(35% diphenyl/65% dimethylsiloxane)	<ul style="list-style-type: none"> ●エステル、アルカン、アルケン、ケトン、アルコール、酸等 広範囲の光学異性体の分離 ●β-CD含有量が10%のβ-DEX 110と20%のβ-DEX 120は、類似したエナンチオマー選択性を持つが、溶出時間が異なる
β -DEX 120	nonbonded: 20% permethylated β -cyclodextrin in poly(35% diphenyl/65% dimethylsiloxane)	
γ -DEX 120	nonbonded: 20% permethylated γ -cyclodextrin in poly(35% diphenyl/65% dimethylsiloxane)	<ul style="list-style-type: none"> ●比較的分子量の大きなエナンチオマーの分離 ●β-DEX 110、β-DEX 120カラムと溶出順序が逆転することもある (Carvone、Methamphetamine)
α -DEX 225	nonbonded: 25% 2,3-di-O-acetyl-6-O-TBDMS- α -cyclodextrin in poly(20% diphenyl/80% dimethylsiloxane)	●比較的分子サイズが小さく、極性の高い光学異性体の分離
β -DEX 225	nonbonded: 25% 2,3-di-O-acetyl-6-O-TBDMS- β -cyclodextrin in poly(20% diphenyl/80% dimethylsiloxane)	<ul style="list-style-type: none"> ●アルコール、エステル、ケトン、アルデヒド等若干の極性を持つ、低分子量の光学異性体の分離 ●ラクトン類(香料成分、フェロモン)分析にユニークな選択性
γ -DEX 225	nonbonded: 25% 2,3-di-O-acetyl-6-O-TBDMS- γ -cyclodextrin in poly(20% diphenyl/80% dimethylsiloxane)	●ケトン及びアルデヒド類等の中程度分子量でやや極性のある光学異性体の分離(α -Ionone、Menthone、)
α -DEX 325	nonbonded: 25% 2,3-di-O-methyl-6-O-TBDMS- α -cyclodextrin in poly(20% diphenyl/80% dimethylsiloxane)	●比較的分子サイズが小さい光学異性体の分離
β -DEX 325	nonbonded: 25% 2,3-di-O-methyl-6-O-TBDMS- β -cyclodextrin in poly(20% diphenyl/80% dimethylsiloxane)	●広い汎用性を持ち、情報の無い光学異性体分離検討で先ず始めに試すカラム
γ -DEX 325	nonbonded: 25% 2,3-di-O-methyl-6-O-TBDMS- γ -cyclodextrin in poly(20% diphenyl/80% dimethylsiloxane)	●比較的大きな分子サイズ化合物の分離